

## **Weiteres über die Pepsin-Chymosin-Frage.**

Von

**A. Rakoczy.**

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium der kaiserl. St.-Wladimir-Universität in Kiew.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. März 1913.)

Seit der Veröffentlichung meiner Arbeit über die Frage von der Identität des Pepsins und Chymosins<sup>(15)</sup> sind einige neue diese Frage mehr oder weniger nah berührende Untersuchungen erschienen. Eine derselben, und zwar die im vorigen Jahre in dieser Zeitschrift veröffentlichte Mitteilung von van Dam,<sup>(5)</sup> in welcher er meine Schlußfolgerungen bestreitet, veranlaßt mich, von neuem auf die Frage, die mir im wesentlichen schon erschöpft schien, zurückzukommen.

In meiner oben zitierten Arbeit, sowie in einer ausführlicheren in russischer Sprache veröffentlichten Abhandlung<sup>(17)</sup> kam ich auf Grund von in der Literatur vorgefundenen Daten und eigenen Versuchen zum Schlusse, daß die Frage von der Identität des milchkoagulierenden und eiweißverdauenden Ferments keine allgemein gültige Lösung finden kann, sondern in Abhängigkeit von Art und Alter der Tiere verschieden zu lösen ist. Es muß unbedingt zugegeben werden, daß im Magen des Kalbes und einiger anderer junger Säugetiere neben dem Pepsin auch ein anderes speziell milchkoagulierendes Ferment — das Chymosin — vorhanden ist; bei den erwachsenen Säugetieren, sowie bei anderen Wirbeltieren ist dieses Ferment jedoch nicht vorhanden, und die durch die Magensäfte oder -infusionen dieser Tiere bewirkte Gerinnung der Milch muß gemäß der Identitätstheorie dem Pepsin allein zugeschrieben werden, das, wie alle anderen Proteasen, die Fähigkeit, Milch zur Gerinnung zu

bringen, die in ihm untrennbar mit der eiweißverdauenden verbunden ist, besitzt. Bei solch einer Lösung der Frage lassen sich auch leicht die einander widersprechenden Schlußfolgerungen, zu denen die zahlreichen Forscher gelangt sind, erklären: die einen haben mit den Fermenten des Kalbes gearbeitet und Beweise für die Dualität beigebracht, die anderen arbeiteten mit Magensaft und -infusionen des Hundes und anderer erwachsener Tiere und haben nicht weniger überzeugende Beweisgründe für die Identität vorgebracht. Von unserem Standpunkte aus ist zu erwarten, daß auch die weiteren Bemühungen, die Magenfermente (Pepsin und Chymosin) zu trennen, nur bei Versuchen mit den Magenfermenten von Kälbern und vielleicht auch noch von einigen anderen jungen Säugetieren zu positiven Resultaten führen werden, und daß die gleichen Bemühungen sich als erfolglos erweisen werden, wenn sie die Magensäfte und -infusionen solcher Tiere betreffen, die nach unserer Meinung kein selbständiges milchkoagulierendes Ferment besitzen und bei denen die Gerinnung durch die Wirkung des Pepsins allein bedingt ist. Diese Erwartungen finden in den in jüngster Zeit erschienenen Arbeiten von van Hasselt, Miss Porter, Burge und Hammarsten ihre Bestätigung.

So wandte van Hasselt<sup>(12)</sup> zur Trennung der Fermente die alte Methode des Aussalzens des Chymosins mit Kochsalz an (Blumenthal, Friedberg,<sup>(7)</sup> Conn<sup>(4)</sup>) und erhielt bei einer solchen Bearbeitung der Kalbsmageninfusionen positive Resultate: mit den Fermenten anderer Tiere hat er jedoch keine Untersuchungen angestellt.

Miss Porter<sup>(14)</sup> hat bewiesen, daß unter den käuflichen Labpräparaten (rennet) solche vorkommen, die bei bedeutender milchkoagulierender Kraft der eiweißverdauenden völlig entbehren, daß aber dieses Fehlen der eiweißverdauenden Fähigkeit nicht durch das Vorhandensein von Antipepsin allein in eben diesen Präparaten erklärt werden kann.

Burge,<sup>(2)</sup> der ebenfalls Labpräparate benutzte, erreichte die Trennung beider Fermente mit Hilfe eines starken elektrischen Stromes.

Somit haben diese drei Forscher das Vorhandensein eines selbständigen milchkoagulierenden Ferments in Kalbsmageninfusionen und in Labpräparaten, die bekanntlich ebenfalls aus Kalbsmägen zubereitet werden, bestätigt.

Hammarsten beschreibt in seiner letzten Arbeit<sup>(11)</sup> ein neues Verfahren zur Gewinnung von pepsinfreien Chymosinlösungen: er mischte eine saure Kalbsmageninfusion mit neutraler Caseinlösung (Natrium-Caseinat); darauf fällte er das Casein, indem er das Gemisch vorsichtig mit  $n/10$ -Natronlauge neutralisierte: «von dem ausfallenden Casein werden hierbei beide Enzyme niedergerissen, das Pepsin aber in viel reichlicherer Menge als das Chymosin.» (S. 143.) Das Filtrat besaß noch eine ziemlich starke milchkoagulierende Wirkung, verdaute aber durchaus kein Eiweiß und gab in einem Falle sogar keine Karmin-Fibrinverdauung. Der Idee nach weist diese Methode eine große Ähnlichkeit mit der von mir vorgeschlagenen (Ausscheidung des Pepsins bei der Dialyse S. 444 ff.) auf: das Pepsin wird aus der Infusion durch einen ausfallenden Eiweißkörper (bei meinem Verfahren durch Mucin, hier jedoch durch Casein) entfernt. Das Ausfallen dieses Eiweißkörpers erfolgt infolge der Herabsetzung der Acidität der Lösung, die bei meinem Verfahren durch eine zweitägige Dialyse auf 20 + 20 Volumina Wasser und beim Verfahren von Hammarsten durch einfache Neutralisation erreicht wird. Dieses Verfahren ist durch seine Einfachheit sehr verlockend, hat aber einen großen Mangel: in die Infusion wird ein neuer Körper — das Casein (Natriumcaseinat) — eingeführt, das, wie ich mich bei der Nachprüfung der Hammarstenschens Versuche überzeugt habe, immer in merklichen Mengen in das Filtrat übergeht und unzweifelhaft einen hemmenden Einfluß bei den Verdauungsversuchen ausübt;<sup>1)</sup> andererseits gestattet eben dieses

<sup>1)</sup> Ich habe die Hammarstenschens Versuche vielmals wiederholt: stets gaben die nach der Fällung des Caseins erhaltenen Filtrate eine recht deutliche Biuretreaktion.

Casein, wenn es zusammen mit dem Pepsin ausfällt, nicht die gehörige Messung der Menge des letzteren im Niederschlag; doch ohne eine solche Messung bleibt, worauf ich in der oben zitierten Arbeit bereits wiederholt hingewiesen, eben die Tatsache der Trennung der Fermente an und für sich unbewiesen. Ferner kann ich nicht umhin, hier den Umstand hervorzuheben, daß Hammarsten alle seine zwölf Versuche ausschließlich mit Kalbsmageninfusion angestellt und in allen Fällen positive Resultate erzielt hat; mit den Fermenten anderer Tiere hat er jedoch nicht experimentiert, weil sie verhältnismäßig wenig Chymosin enthalten.<sup>1)</sup> Auch in dieser Arbeit weist Hammarsten also wie schon früher die Möglichkeit der Trennung der Fermente nur für die Kalbsmageninfusion nach und besteht trotzdem auf dem Vorhandensein eines selbständigen milchkoagulierenden Ferments bei allen Tieren. Ich habe die Hammarstenschenschen Versuche mit Kalbsmageninfusionen wiederholt und wirklich eine deutliche Trennung erhalten. So z. B. koagulierte eine Kalbsmageninfusion (auf  $n/20$ -HCl) Milch (0,5 ccm saurer Infusion auf 5 ccm Milch bei  $40^{\circ}$  C.) in ca. 10"; das nach der Bearbeitung dieser Infusion mit Casein erhaltene Filtrat koagulierte (nach Ansäuerung bis auf  $n/20$ -HCl) Milch in 70" und gab im Laufe einer halben Stunde mit Karmin-Fibrin keine Färbung. Darauf versuchte ich dasselbe Verfahren auch auf Rindermageninfusion anzuwenden.

I. Rindermageninfusion (1 : 10  $n/20$ -HCl). 0,5 ccm Infusion koag. 5 ccm Milch in 70—80", verd. in 16 Stunden 8,0 mm Eiweiß nach Mett. Das nach dem Ausfall des Caseins erhaltene Filtrat wurde bis  $n/20$ -HCl angesäuert und sodann zum Ausgleich der Menge der festen Substanzen in der ursprünglichen (Kontroll-)Infusion und im Filtrat zur ersteren ein gleiches Volumen des gekochten Filtrats hinzugesetzt und umgekehrt; die Vergleichung der milchkoagulierenden und eiweißverdauenden Kraft ergab folgende Werte:

<sup>1)</sup> «Übrigens muß ich hervorheben, daß mein Verfahren nur auf Kalbsmageninfusionen, welche anderen Infusionen oder Magensäften gegenüber relativ sehr reich an Chymosin sind, sich bezieht» (S. 168).

	Koag. 5 ccm Milch		Eiweißverdauende Kraft		
	0,5 ccm	1,0 ccm	Relat. Größe nach der Karmin-Fibrin-Meth. <sup>1)</sup>	nach Mett in 16 St.	
				Serum	Eiweiß
K. (+ gek. F.)	2'	0,5'	30—40	8,0 mm	2,8 mm
F. (+ gek. K.)	90'	21'	1	ca. 1,0	0

Die milchkoagulierende und eiweißverdauende Kraft ist in der Kontrollinfusion und im Filtrat proportional verteilt; folglich hat in der Rinderinfusion, in der unserer Meinung nach kein selbständiges milchkoagulierendes Ferment enthalten ist, keine Trennung stattgefunden.

Hammarsten hat, wie ich schon erwähnte, mit den Säften anderer Tiere nicht experimentiert, weil seiner Meinung nach in denselben zu wenig Chymosin enthalten sei. Mißlingt nun etwa aus demselben Grunde in unserem Falle die Trennung der Fermente in der Rinderinfusion? — Doch solchenfalls steht zu erwarten, daß jede andere der Kalbsmageninfusion an milchkoagulierender Kraft gleichkommende Infusion oder Lösung bei der Bearbeitung mit Casein ein positives Resultat ergeben wird. Von diesen Erwägungen ausgehend, habe ich einige Versuche mit käuflichen trockenen Pepsinpräparaten angestellt, aus denen man Lösungen von beliebiger Stärke bereiten und sie so vom Standpunkte Hammarstens nicht weniger reich an Chymosin machen konnte, als die Kalbsmageninfusionen.

II. Eine 0,5%ige Lösung von Pepsin Parke, Davis u. Co. in  $n/20$ -HCl bringt Milch in 8" zur Gerinnung und steht folglich seiner milchkoagulierenden Kraft nach nicht hinter der Kalbsmageninfusion zurück. Nach der Bearbeitung mit Casein zeigte das bis auf  $n/20$ -HCl angesäuerte Filtrat keine verdauende Wirkung auf Karmin-Fibrin, gab aber auch im Laufe von 40 Minuten keine Milchgerinnung.

<sup>1)</sup> Die Verdünnungen, bei denen die verglichenen Lösungen unter sonst gleichen Bedingungen gleiche Farbentöne mit trockenem Karmin-Fibrin ergaben.

III. Derselbe Versuch mit einer Lösung von Pepsin Grübler in  $n/20$ -HCl. Diese Lösung koagulierte Milch in 10", das Filtrat gab aber in drei Stunden noch keine Gerinnung.

Die angeführten Versuche beweisen, daß auch bei der Hammarstenschenschen Casein-Methode der Trennung der Fermente das Resultat von der Wahl des Materials abhängt; in den Kalbsinfusionen, welche zwei Fermente enthalten, gelingt die Trennung; hingegen führt dieses Verfahren bei Anwendung auf die Magenfermente derjenigen Tiere, die kein Chymosin besitzen, und bei denen die milchkoagulierende Wirkung (Parachymosin) dem Pepsin angehört und unzertrennlich mit der eiweißverdauenden Wirkung verbunden ist, zu negativen Resultaten.

Aberhalden und Strauch<sup>(1)</sup> wandten zur Trennung des Pepsins und Chymosins zwei Methoden an — die allmähliche Zerstörung der Fermente durch Schütteln (Schüttelinaktivierung) und die Adsorption des Pepsins durch Elastin. Nach der ersten Methode untersuchten sie nur Kalbsmageninfusionen und kamen ihrer Meinung nach zu keinem bestimmten Resultat (S. 333): bei andauerndem Schütteln fiel die eiweißverdauende Kraft die ganze Zeit über (24—48 St.) gleichmäßig, während die milchkoagulierende nach 10—12 Stunden scharf ausgeprägt sank, ohne jedoch völlig vernichtet zu werden. Wenn wir annehmen, daß die von der Kalbsmageninfusion bewirkte Milchgerinnung die Summe der Wirkungen zweier Fermente — des Pepsins und des Chymosins — darstellt, so werden diese Resultate vollkommen verständlich: wahrscheinlich wird das Chymosin beim Schütteln schneller zerstört als das Pepsin, weshalb die milchkoagulierende Kraft schneller als die eiweißverdauende sinkt, jedoch nicht völlig vernichtet wird, da das Pepsin mit der ihm eigenen milchkoagulierenden Wirkung (Parachymosin) übrig bleibt — eine Erscheinung, die der von mir bei meinen Versuchen mit der andauernden Er-

wärmung von Kalbsmageninfusion im Brutschrank beobachteten (S. 428 ff.) analog ist.

Bei den Trennungsversuchen vermitteltst Elastin (Adsorptionsmethode) erzielten die genannten Autoren auch keine bestimmten Resultate. Gemeinsam mit dem Herrn E. P. Sinenikow habe ich diese Methode auf Infusionen und Säfte verschiedener Tiere angewandt und dabei folgendes erhalten.

Das Elastin wurde gemäß den Hinweisen von Abderhalden und Strauch aus dem Ligam. nuchae eines Pferdes hergestellt (S. 320). Für jeden Versuch wurde 1 g trockenes Elastin auf 10 ccm saure ( $n/20$ -HCl) Infusion genommen; die Mischung stellten wir gewöhnlich auf 2—3 Stunden in den Brutschrank, worauf wir sie filtrierten. Das Filtrat wurde auf das Vorhandensein von Albumosen und anderen Verdauungsprodukten untersucht. Zu diesem Zweck wurden zu 1 ccm desselben 2 ccm 30%ige NaOH und aus einer Bürette eine 1%ige  $\text{CuSO}_4$ -Lösung bis zum Verschwinden der violetten Färbung hinzugesetzt. Zum Ausgleich der Menge der Albumosen und anderer Beimengungen in der ursprünglichen (Kontroll-) Lösung und im Filtrat wurde zu jeder von diesen Flüssigkeiten ein gleiches Volumen der gekochten anderen zugesetzt; zuweilen wurden außerdem beide auf solche Weise hergestellten Mischungen durch entsprechende Verdünnung auf die gleiche milchkoagulierende Kraft gebracht, worauf ihre eiweißverdauende Kraft verglichen wurde; zur Verdünnung wurde eine gekochte Mischung beider Lösungen gebraucht. Zur Bestimmung der milchkoagulierenden Kraft wurden zu 5 ccm auf 39—40° C. erhitzter Milch 0,5 oder bei sehr schwach wirkenden Infusionen je 1,0 ccm saure ( $n/20$ -HCl) Infusion hinzugesetzt. Die eiweißverdauende Kraft wurde mit trockenem Karmin-Fibrin oder nach Mett durch mit Eiweiß oder Serum gefüllte Röhrchen gemessen; um den hemmenden Einfluß der in den verglichenen Lösungen enthaltenen Beimengungen zu beseitigen, wurden diese Gemische bei den Verdauungsversuchen noch 4- oder 10mal mit  $n/20$ -HCl verdünnt.

IV. Kalbsmageninfusion. Das Filtrat erforderte nach  $3\frac{1}{2}$  stündiger Wirkung des Elastins ca. 6,0 ccm 1%iger  $\text{CuSO}_4$ .

Die Gemische (Kontrollösung + gekochtes Filtrat und Filtrat + gekochte Kontrollösung) ergaben noch zu kurze Gerinnungszeiten ( $< 10''$ ), weshalb jedes von ihnen noch 5 mal mit  $n/20$ -HCl verdünnt wurde, worauf die Vergleichung folgende Werte ergab:

K. + gek. F. koag. 29'', verd. Eiweiß 2,0 mm, Serum 11,0 mm  
 F. + » K. » 35'', » » 0 » » 2,0 »

Die milchkoagulierende Kraft der Kalbsinfusion hatte sich nach der Bearbeitung mit Elastin fast garnicht verändert; die verdauende war um ca. 30mal verringert. Augenscheinlich wird das Pepsin in viel größerer Menge adsorbiert als das Chymosin; infolgedessen ergibt sich auch hier eine Trennung der Fermente.

V. Der gleiche Versuch mit einer anderen Kalbsinfusion. Elastinwirkung 2 Stunden. K. + gek. F. mehrmals mit gek. Mischung K. + F. verdünnt.

K. + gek. F. (verdünnt) koag. 20'', verd. Eiweiß 2,0 mm, Serum 5,0 mm  
 F. + gek. K. » 12'', » » 0 » » ca. 1,0 »

Das Resultat ist das gleiche wie im vorhergehenden Versuch.

VI. Der gleiche Versuch mit einer Rinderinfusion (koag. in 90''). Nach Bearbeitung mit Elastin erforderte das Filtrat ca. 7,0 ccm 1%iges  $\text{CuSO}_4$  bei der Biuretprobe; folglich kam diese Infusion ihrem Pepsingehalt nach der in Versuch IV verwandten Kalbsinfusion fast gleich. Die milchkoagulierende Kraft der Mischungen (K. + gek. F. und F. + gek. K.) erwies sich als sehr gering, weshalb zum Versuche je 1,0 ccm auf 5 ccm Milch genommen wurden.

K. + gek. F. koag. 40'', verd. Eiweiß 3,0 mm, Serum 11,0 mm  
 F. + gek. K. » 7' = 420'', » » 0 » » 3,0 »

Die milchkoagulierende Kraft hatte sich um ca.  $10\frac{1}{2}$  mal verringert, die verdauende um 13mal ( $11^2 : 3^2 = 13$ ) — die Proportionalität beider Wirkungen war ungestört geblieben, also keine Trennung der Fermente erfolgt.

VII. Der gleiche Versuch mit einer Lösung von Pepsin Parke, Davis u. Co.; K. + gek. F. durch entsprechende Verdünnung auf die milchkoagulierende Kraft von F. + gek. K. gebracht.



K. + gek. F. (verdünnt) koag. 60",	verd. Eiw. 3,0 mm	} Karmin-Fibrin- Verd. in beiden Fällen gleich.
F. + gek. K.                    > 63",	> 3,0 "	

Beide Wirkungen sind proportional in der Kontrollösung und im Filtrat verteilt, folglich ist auch hier keine Trennung erfolgt.

VIII. Der gleiche Versuch mit natürlichem Hundemagensaft. Der Saft wurde zwecks Erreichung einer Acidität von  $\frac{n}{20}$ -HCl zuerst gegen strömendes Wasserleitungswasser fast bis zur neutralen Reaktion dialysiert und sodann mit HCl angesäuert. Nach der Bearbeitung mit Elastin wurden beide Flüssigkeiten in der vorstehend angegebenen Weise auf die gleiche milchkoagulierende Kraft gebracht.

K. + gek. F. (verdünnt) koag. 96",	verd. Eiw. in 36 St. 4,0 mm
F. + gek. K.                    > 102",	> 36 " 4,0 "

Keine Trennung.

Diese Versuche ergeben eine neue Bestätigung der früher von mir ausgesprochenen Sätze. Das Elastin, das einen bedeutenden Teil des Pepsins aus der Infusion oder aus dem Saft adsorbiert, wirkt augenscheinlich garnicht oder nur sehr wenig auf das Chymosin ein; deshalb gelingt in der Kalbsinfusion die Trennung, während die Infusionen und Säfte anderer Tiere, die kein Chymosin besitzen, nach der Bearbeitung mit Elastin zugleich mit dem Pepsin auch ihre milchkoagulierende Kraft verlieren.

Die Möglichkeit der Trennung des Pepsins vom Chymosin ist unzweifelhaft durch das ungleiche Verhalten dieser Fermente zum Elastin bedingt. Doch auf Grund der vorstehenden Versuche läßt sich noch nicht feststellen, ob das Chymosin durch das Elastin nur in geringerem Grade als das Pepsin adsorbiert wird oder ob es sich überhaupt nicht adsorbieren läßt. Die geringfügige Herabsetzung der milchkoagulierenden Kraft des Filtrats in Versuch IV kann sowohl durch die Adsorption geringer Chymosinmengen, als auch durch die Ausscheidung von Pepsin, dessen Gegenwart ebenfalls einen Einfluß

auf die Koagulationsschnelligkeit ausübt, aus der Infusion erklärt werden. Um das Verhältnis des Chymosins zum Elastin aufzuklären, habe ich einige Versuche mit solchen Kalbsinfusionen angestellt, aus welchen das Pepsin mittelst der Dialyse mit nachfolgendem Abkühlen und Zentrifugieren nach dem von mir angegebenen Verfahren zum größten Teil ausgeschieden worden war: die auf diese Weise bearbeiteten Infusionen enthielten eine verschwindend kleine Pepsinmenge, weshalb jede Herabsetzung der milchkoagulierenden Kraft nach der Bearbeitung mit Elastin nur noch auf die Adsorption von Chymosin und nicht auf einen Pepsinverlust zurückgeführt werden mußte.

IX. Eine nach Entfernung des Pepsins bis zu  $n_{20}$ -HCl angesäuerte Kalbsmageninfusion koagulierte Milch in ca. 10", verdaute Eiweiß in 36 Stunden weniger als 0,5 mm nach Mett. Nach der Bearbeitung mit Elastin (3 St.) wurden Gemische hergestellt — K. + gek. F. und umgekehrt, worauf zur bequemeren Messung der Koagulationszeit jedes von ihnen noch 4 und 20mal mit  $n_{20}$ -HCl verdünnt wurde.

K. + gek. F.	4 mal verdünnt	29"	20 mal verd.	155—160"
F. + gek. K.	4 " " "	31"	20 " " "	160—170"

Die Karmin-Fibrin-Probe ergab für K. bei 20facher Verdünnung die Färbung nach 20—30 Minuten. F. färbte sich unter den gleichen Bedingungen in 20 Stunden fast garnicht. Ich habe mehrmals solche Versuche wiederholt, und jedesmal verlor die Infusion nach dem Stehen mit Elastin ihre eiweißverdauende Kraft, während die milchkoagulierende so unbedeutend abnahm, daß der Unterschied zwischen K. und F. fast nicht über die Grenzen eines Versuchsfehlers hinausging. Also war es mir nicht gelungen, eine Chymosinadsorption aus sauren Infusionen durch das Elastin festzustellen. Nun wiederholte ich diese Versuche mit denselben Infusionen, jedoch ohne sie vorher anzusäuern, folglich bei einer Acidität von ca.  $n_{200}$ -HCl.

X. Kalbsinfusion dialysiert. Das nach der Fällung des Pepsins erhaltene Filtrat wurde in drei Portionen geteilt; die erste (A) diente zur Untersuchung der Wirkung des Elastins auf das Chymosin ohne Ansäuerung (Acidität ca.  $n_{200}$ -HCl); die

zweite (B) wurde bis  $n/80$ -HCl, die dritte (C) bis  $n/20$ -HCl angesäuert; jede Portion in zwei Teile geteilt, von denen der eine zur Kontrolle bestimmt, der andere zwei Stunden lang im Brutschrank mit Elastin bearbeitet wurde; sodann wurden Filtrate und Kontrollösungen von A und B auf  $n/20$ -HCl gebracht, wobei die Volumina aller Portionen um das Doppelte vergrößert wurden. Der Vergleich der milchkoagulierenden Kraft der erhaltenen Lösungen ergab folgende Resultate:

	A ( $n/200$ -HCl)	B ( $n/80$ -HCl)	C ( $n/20$ -HCl)
Kontr. koag.	62"	60"	60"
Filtrat	210"	65"	61"

Es erwies sich, daß bei der Bearbeitung einer Chymosinlösung von geringer Acidität (ca.  $n/200$ -HCl) mit Elastin eine scharf ausgeprägte Chymosinadsorption (ca.  $2/3$ ) erfolgt, während bei einer Acidität von  $n/80$ -HCl und höher fast gar keine Adsorption stattfindet.

XI. Das nach der Dialyse einer Kalbsinfusion nicht angesäuerte Filtrat wurde mit Elastin auf  $1/2$  Stunde in den Brutschrank gestellt. Nach der Ansäuerung der Kontrollösung und des Filtrats bis  $n/20$ -HCl erhielt man die gleichen Resultate:

K. koag. 35"

F. » 90"

XII. Dieselbe dialysierte Infusion wurde in zwei Portionen geteilt, die eine (A) nicht, die andere (B) auf  $n/20$ -HCl angesäuert, beide mit Elastin auf 20 Stunden bei Zimmertemperatur aufgestellt und dann filtriert (F. 1). Das Elastin wurde vielfach mit destilliertem Wasser gewaschen und mit 3 ccm Wasser 4 Stunden bei Zimmertemperatur digeriert; darauf wurde abfiltriert und das Filtrat auf  $n/20$ -HCl angesäuert (F. 2). Wenn das Chymosin bei geringerer Acidität in größerer Menge durch das Elastin adsorbiert wird, so muß man erwarten, daß bei der nachfolgenden Bearbeitung mit Wasser das Elastin der Portion A mehr Chymosin ausscheiden wird, als das der Portion B. Die Messung der milchkoagulierenden Kraft der zweiten Filtrate (F. 2) der Portionen A und B bestätigte das.

	A ( $n_{200}$ -HCl)	B ( $n_{20}$ -HCl)
Kontrollös. koag.	60''	59''
Filtrat 1	ca. 10' = 600''	62''
2	8'	während 1 St. keine Koagul.

Somit wird das Chymosin bei sehr geringer Acidität des Reaktionsmediums gleich dem Pepsin durch Elastin adsorbiert und kann sodann durch Digerieren mit Wasser wieder aus dem Elastin extrahiert werden.

XIII. Zu 5 ccm einer nicht dialysierten Kalbsinfusion 12 ccm  $n_{50}$ -NaOH hinzugesetzt bis zu neutraler Reaktion (Phenolphthalein) (Portion A); zu einer anderen Portion (B) ebensoviel  $n_{20}$ -HCl hinzugesetzt. Beide Portionen mit Elastin auf 2 $\frac{1}{2}$  St. in den Brutschrank gestellt und dann filtriert.

Die Vergleichung der milchkoagulierenden Kraft (1 ccm Inf. + 0,5 ccm  $n_{20}$ -HCl + 5 ccm Milch) der Portion A ergab:

K. + gek. F. koag. 50'' Fibrin-Karminverd.  $\frac{1}{2}$  St. deutlich.  
 F. + gek. K. > 15' , 0

Sodann wurden die Filtrate von A und B verglichen, wobei zum Ausgleich der Acidität und des NaCl-Gehalts die Gemische: Filtrat von A + gleiches Vol. gek. Filtrat von B und umgekehrt hergestellt wurden:

F. (A) + gek. F. (B) koag. > 10'  
 F. (B) + , F. (A) , 20''.

Folglich wird das Chymosin durch Elastin auch aus gewöhnlicher mit NaOH neutralisierter Kalbsinfusion adsorbiert.

Zu einer andern Kategorie gehören die dieser Frage gewidmeten Untersuchungen der Unitarier, die bestrebt sind, zu beweisen, daß die milchkoagulierende Wirkung des Kalbsmagens, wie auch der Mägen der anderen Tiere nur dem Pepsin allein zuzuschreiben ist.

Sawitsch<sup>(18)</sup> gibt in seiner fast gleichzeitig mit der meinigen erschienenen Arbeit zu, daß zwischen der milchkoa-

gulierenden Wirkung der Magensäfte von Wiederkäuern (Kalb und Ziegenbock) und des Hundes ein Unterschied bestehe und daß die vom Standpunkt der Identitätstheorie geforderte Proportionalität der milchkoagulierenden und eiweißverdauenden Wirkung in diesen Säften nicht beobachtet wird, und versucht diesen Unterschied durch das ungleiche Verhalten des Wiederkäuer- und Carnivorenpepsins dem HCl-Gehalt und den übrigen Versuchsbedingungen gegenüber zu erklären. Er führt eine Reihe von Versuchen an, die nachweisen, daß das Wiederkäuerpepsin im Vergleich zu dem des Hundes bei der Erwärmung mit HCl im Brutschrank schneller zerstört wird und sein Verdauungsoptimum bei einem niedrigeren HCl-Gehalt eintritt; folglich besteht zwischen der eiweißverdauenden Fähigkeit (den Pepsinen) der Wiederkäuer und des Hundes eben solch ein Unterschied, wie er von Bang und anderen zwischen der milchkoagulierenden Fähigkeit der Magensäfte derselben Tiere, d. h. zwischen dem Chymosin des Kalbes und dem Parachymosin anderer Tiere beobachtet wurde. Aus diesen Tatsachen schließt Sawitsch, daß die milchkoagulierende und eiweißverdauende Fähigkeit ein und demselben Fermente angehören, welches in den Säften der Wiederkäuer und des Hundes verschiedene Eigenschaften aufweist.

Wenn sich, wie meine Versuche gezeigt haben, die Magensäfte junger Tiere (Kälber) nach Stärke und Charakter der milchkoagulierenden Wirkung von den Säften der erwachsenen Tiere derselben Art (Rind) in scharf ausgeprägter Weise unterscheiden, so ist vom Standpunkte der oben dargelegten Erklärungen von Sawitsch zu erwarten, daß diese Säfte eben solche Unterschiede in ihrer eiweißverdauenden Wirkung zeigen werden, d. h. daß sich das Pepsin des Rindermagens gleich dem des Hundes der zerstörenden Wirkung der HCl gegenüber widerstandsfähiger erweisen wird, als das Pepsin des Kalbsmagens, und sein Verdauungsoptimum bei einer höheren Acidität eintreten wird.

Die Untersuchung des Einflusses der HCl auf die eiweißverdauende Kraft des Kalbs- und Rindermagens führte zu folgenden Resultaten.

XIV. Rinder-, Kalbs- und Hundeeinfusionen ( $n/20$ -HCl) wurden auf fast gleiche eiweißverdauende Kraft gebracht; jede derselben wurde in gleicher Weise mit Wasser oder HCl bis  $n/40$ -,  $n/20$ -,  $n/10$ -, und  $n/5$ -HCl verdünnt.

Acidität in HCl-%	Verdaut in 24 Stunden nach Mett		
	Rinderinfusion	Kalbsinfusion	Hundeeinfusion
0,09 ( $n/40$ )	6,4	6,0	6,4
0,18 ( $n/20$ )	9,0	7,0	8,2
0,365 ( $n/10$ )	6,1	5,0	6,4
0,73 ( $n/5$ )	0	0	3,1

Dieser Versuch bestätigt die Beobachtungen von Sawitsch — das Pepsin des Hundes zeigt eine größere Widerstandsfähigkeit der HCl gegenüber als die Pepsine der Wiederkäuer und gibt meßbare Eiweißverdauungswerte bei einer solchen Acidität (0,73), bei der sich die Pepsine des Rindes und des Kalbes bereits als unwirksam erweisen; doch verhalten sich die letzteren (Rinder- und Kalbspepsin) der Erhöhung des HCl-Gehalts gegenüber ganz gleich, woraus man schließen kann, daß die ungleichmäßige Verteilung der milchkoagulierenden und eiweißverdauenden Kraft in den Säften des Rindes und Kalbes nicht mit irgend welchen Unterschieden in den Eigenschaften der Pepsine verbunden ist.

Solche Versuche wurden von mir vielfach und stets mit dem gleichen Resultate wiederholt. Das Optimum der Eiweißverdauung in den Mettschen Röhren wurde sowohl mit den Säften des Rindes und Kalbes, als auch mit dem des Hundes bei 0,18% HCl ( $n/20$ ) oder etwas niedriger erhalten, was mit den Daten Tichomirows<sup>(19)</sup> bezüglich des Hundemagensaftes vollkommen übereinstimmt; die Serumröhren ergaben das Verdauungsoptimum bei etwas höherer Acidität zwischen 0,18 und 0,36% HCl, was wahrscheinlich von der Alkaleszenz des Serums abhängt. Die Erhöhung des HCl-Gehalts bis zu 0,365% und höher war von gleich schädlichem Einfluß

auf die Verdauung durch Rinder- und Kalbsmageninfusion, und bei 0,6—0,7% HCl verdauten beide Hühnereiweiß überhaupt nicht, Serumeiweiß aber sehr schwach. Die gleichen Resultate ergab der Vergleich der natürlichen Säfte von Kälbern verschiedenen Alters.<sup>(16)</sup>

Den hemmenden Einfluß des Säureüberschusses auf die eiweißverdauende Kraft der Säfte von Wiederkäuern erklärt Sawitsch dadurch, daß die Fermente dieser Säfte verhältnismäßig leicht bei Erwärmung mit HCl zerstört werden; solch einen zerstörenden Einfluß konnte ich auch bei meinen Versuchen beobachten, wobei sich jedoch erwies, daß das Rinderpepsin auch hier die gleichen Eigenschaften aufwies, wie das des Kalbes.

XV. Kalbs- und Rinderinfusion ( $n/20$ -HCl) wurden auf die gleiche eiweißverdauende Kraft gebracht und zu jeder derselben ein gleiches Volumen der gekochten anderen Infusion hinzugesetzt:

Rinderinfus. (+ gek. Kalbsinf.)	koag.	65",	verd. (24 St.)	12 mm
Kalbsinf. (+ » Rinderinf.)	»	ca. 5",	» (24 »)	12 »

Um sie auf verschiedene Acidität zu bringen, wurde jedes Gemisch noch 4 mal mit einer entsprechenden Wasser- und HCl-Menge verdünnt, worauf sich folgende Werte für die Eiweißverdauung in 24 Stunden ergaben:

Acidität	Rinderinfusion	Kalbsinfusion
A. 0,045 ( $n/80$ )	3,0 mm	3,4
B. 0,18 ( $n/20$ )	8,0 »	8,0
C. 0,6 ( $n/6$ )	ca. 2,0 » (undeutl.)	ca. 2,0 (undeutl.)

Diese Gemische wurden 4 Tage (ca. 90 St.) im Brutschrank stehen gelassen und ein Teil von jedem zur Kontrolle kalt aufbewahrt; sodann wurden alle Portionen aufs neue auf die Acidität von 0,18% HCl gebracht, zu welchem Zwecke sie wieder 4 mal mit den entsprechenden Mengen Wasser und HCl verdünnt werden mußten; ihre milchkoagulierende (Milch ohne  $\text{CaCl}_2$  und mit 0,2%  $\text{CaCl}_2$ ) und eiweißverdauende (Hühnereiweiß in 24 St.) Kraft wurden bestimmt:

	Rinderinfusion			Kalbsinfusion		
	koaguliert Milch		verdaut Eiweiß in 24 Std. mm	koaguliert Milch		verdaut Eiweiß in 24 Std. mm
	ohne CaCl <sub>2</sub>	mit CaCl <sub>2</sub>		ohne CaCl <sub>2</sub>	mit CaCl <sub>2</sub>	
A. Nicht erwärmt . . .	8'	43''	3,1	1'	18''	3,2
Erwärmt . . . . .	15'	50''	2,4	3'	30''	2,2
B. Nicht erwärmt . . .	8,5'	40''	2,9	1'	16''	3,0
Erwärmt . . . . .	17'	50''	2,2	15'	52''	2,3
C. Nicht erwärmt . . .	8'	41''	3,0	1'	16''	3,1
Erwärmt . . . . .	∞	ca.2St.	0 <sup>1)</sup>	∞	ca.2St.	0 <sup>1)</sup>

Dieser Versuch zeigt, daß die HCl eine völlig gleiche zerstörende Wirkung auf die eiweißverdauende Kraft aller verglichenen Infusionen ausübt. Folglich ist gar kein Grund vorhanden, die Identität des Rinder- und Kalbspepsins anzuzweifeln.

Außerdem findet sich in diesem Versuch eine Reihe von Beispielen, durch die die früher von mir ausgesprochenen Sätze noch einmal bestätigt werden, und zwar:

1. daß bei gleicher proteolytischer Kraft die Rinder- und Kalbsinfusion nach Erwärmung (Zerstörung des Chymosins der Kalbsinfusion) die gleiche milchkoagulierende Kraft aufweisen (vgl. A und B) und 2. daß der Unterschied zwischen der milchkoagulierenden Kraft der nicht erwärmten und der erwärmten Kalbsinfusion sich geringer erweist, wenn die Gerinnungsversuche in Gegenwart von CaCl<sub>2</sub> ausgeführt werden.

Beim Vergleiche der milchkoagulierenden Wirkung der im Brutschrank erwärmten und der nicht erwärmten Kalbsinfusion kam Sawitsch zu denselben Resultaten, wie ich, hat ihnen aber eine völlig andere Erklärung gegeben. Seiner Meinung nach erfolgt bei andauernder Erwärmung der Kalbsinfusion keine Zerstörung des Chymosins, sondern eine Verwandlung desselben in Parachymosin, wodurch sich auch die größere Empfindlich-

<sup>1)</sup> Die Karmin-Fibrinprobe ergab nach 20 Minuten eine schwache für beide Infusionen vollkommen gleiche Rosafärbung.



keit der erwärmten Infusion gegenüber  $\text{CaCl}_2$  und die übrigen Eigenschaften derselben erklären lassen; diese Möglichkeit des Überganges des einen Ferments in das andere soll als neuer Beweis für ihre Identität dienen. Wenn dem so wäre, so hätte man vom Standpunkte der Identitätstheorie zu erwarten, daß das Kalbsmagenferment, wenn es sich in seiner milchkoagulierenden Fähigkeit geändert hat, in derselben Richtung auch seine eiweißverdauende Fähigkeit verändern, d. h. der zerstörenden HCl-Wirkung gegenüber widerstandsfähiger werden und gleich dem Hundesaft bei höherem HCl-Gehalt Eiweiß verdauen müßte, als die nicht erhitzte. Allein die von Sawitsch selbst aufgeführten Versuche ergeben ja gerade das Umgekehrte; auf S. 22 der zitierten Arbeit findet sich folgende die Kalbsinfusion betreffende Tabelle:

	Milchkoagulierung				Eiweißverdauung			
	Hinzugesetzte $\text{CaCl}_2$ -Menge				Bei 0,22% HCl		Bei 0,1% HCl	
	8 ‰	2 ‰	0,05 ‰	0 ‰	Hühner-eiweiß	Serum-eiweiß	Hühner-eiweiß	Serum-eiweiß
Nicht erwärmte	1' 35"	4' 45"	7' 30"	14'	0,8 mm	3,1 mm	2,0 mm	4,4 mm
7 Tage erwärmte	1' 40"	6' 30"	17'	55'	0,3 ,	2,5 ,	2,0 ,	4,2 ,

Obgleich die Kalbsinfusion nach 7tägiger Erwärmung deutliche Parachymosineigenschaften erworben hatte, so verdaute sie doch Eiweiß und Serum bei hoher Acidität (0,22%) sogar schlechter, als die nicht erwärmte Infusion, während beide bei niedriger Acidität (0,1%) die gleiche eiweißverdauende Kraft zeigten; mit anderen Worten, das Chymosin verwandelte sich in Parachymosin, das Pepsin hingegen blieb unverändert oder veränderte sich sogar in der zu erwartenden Veränderung entgegengesetzter Richtung, indem es der HCl gegenüber empfindlicher wurde.

Somit erreicht auch dieser Versuch, die fermentativen Eigenschaften der Kalbsinfusion vom Standpunkte der Identitätstheorie zu deuten, nicht seinen Zweck.

Ein anderer Anhänger der Identitätstheorie, van Dam,<sup>(5)</sup> gründet jetzt seine Beweisführung auf Versuche mit der Caseinverdauung. Die Versuche haben ihn zu der Schlußfolgerung gebracht: «daß unter sehr verschiedenen Umständen in schwach saurer Lösung die Verdauung des Caseins durch Infusionen auf Kalbs-, Rinds- und Schweinsmägen fast vollkommen parallel geht mit der Gerinnungsgeschwindigkeit, während die Verdauung von Hühnereiweiß in 0,2% HCl diese Parallelität bekanntlich gar nicht zeigt.» (S. 261).

Die Frage von der Natur des Chymosins ist bis hierzu noch offen. Nichts steht der Annahme im Wege, daß dasselbe eine eigenartige Protease darstellt, die auf das Casein ähnlich wie das Pepsin wirkt, sich jedoch vom letzteren durch seine Unfähigkeit zur Eiweißverdauung und noch durch viele andere Eigenschaften (Unterschiede zwischen Chymosin und Parachymosin), durch die die Möglichkeit gegeben ist, dieses Ferment vom Pepsin zu trennen, unterscheidet. Wenn wir uns auf diesen Standpunkt stellen, so lassen sich alle van Damschen Versuche auf einfache Weise erklären.

Eine Parallelität zwischen milchkoagulierender und caseinverdauender Wirkung gelangt in seinen Versuchen nur unter ganz bestimmten Bedingungen, und zwar bei der Caseinverdauung in einem sehr schwach sauren Reaktionsmedium zur Beobachtung, während sich bei erhöhter Acidität das Verhältnis ändert und die caseinverdauende Kraft sich nun fast proportional der eiweißverdauenden erweist; das ist z. B. aus der Vergleichung der Versuche 1 und 17 (S. 256 und 265) zu ersehen:

	Koaguliert bei 25° C.	Verdaut nach Mett	Caseinverdauung	
			bei schwach saurer Reaktion (Versuch 1)	bei 0,3-n-HCl (Versuch 17)
Kalb . . .	61"	0,6 mm	15,1	3,9
Schwein . .	60"	5,5	16,6	26,7

Offenbar machen sich bei der Caseinverdauung dieselben Unterschiede in den Eigenschaften des Chymosins und Pepsins

(Parachymosins) bemerkbar, die von Bang für die milchkoagulierende Wirkung dieser Fermente festgestellt worden sind. Bei niedriger Acidität werden für das Pepsin ungünstige Bedingungen geschaffen, die auf die Schweinsinfusion eine schärfer ausgeprägte Wirkung ausüben, als auf die Kalbsinfusion, in der außer dem Pepsin das einer geringeren Acidität gegenüber weniger empfindliche Chymosin enthalten ist. Die Erhöhung der Acidität ist dem Pepsin günstiger, weshalb die Schweinsinfusion, die mehr Pepsin aufweist, der Kalbsinfusion bedeutend überlegen ist.

Ein vollkommener Parallelismus zwischen der milchkoagulierenden und caseinverdauenden Wirkung gelangt aber sogar bei niedriger Acidität nicht zur Beobachtung: in allen Versuchen von van Dam ergeben die mehr Pepsin enthaltenden Lösungen auch größere Werte für die Caseinverdauung;<sup>1)</sup> in einigen Versuchen (6 u. 8, S. 258) ist diese Divergenz sehr bedeutend, so z. B. in Versuch 8:

Kalb	koaguliert bei 28° C. — 90"	verdaut Eiweiß	23,45
Schwein	28° C. — 90"	»	32,3

Das Fehlen der zu erwartenden Proportionalität erklärt van Dam damit, daß das Pepsin der Schweinsinfusion unter den gegebenen Versuchsbedingungen (Koagulation nicht angesäuertes Milch) seine Koagulationskraft nicht in vollem Umfange entfalten konnte: deshalb wiederholt der Autor denselben Versuch, wobei er die Infusionen jetzt nach ihrer Fähigkeit, angesäuerte Milch (6 ccm  $\frac{n}{10}$ -HCl auf 100 ccm Milch) zu koagulieren, auf die gleiche Kraft bringt und die Gerinnung selbst bei noch niedrigerer Temperatur (24,5° C.) vornimmt, wobei er in der Tat einander mehr angenäherte Werte für die Caseinverdauung erhält, obschon das Übergewicht doch noch auf Seiten der Schweinsinfusion liegt (Kalb — 26,6, Schwein — 28,9). Somit schafft van Dam bei der Bestimmung der Koagulationskraft für das Pepsin günstige Bedingungen (niedrige Temperatur, angesäuerte Milch), während er die Be-

<sup>1)</sup> Mit Ausnahme von Versuch 2, der aber nicht beweiskräftig ist, da hier kein Kontrollversuch vorgenommen wurde.

stimmung der caseinverdauenden Kraft bei für das Pepsin ungünstigen Bedingungen (niedrige Acidität) ausführt, um nun aus der Zusammenstellung der unter solchen Bedingungen erhaltenen Zahlen einen Parallelismus zu konstatieren. Ich habe bereits in meiner oben zitierten Arbeit über die logische Unzulänglichkeit einer derartigen Argumentation gesprochen — man kann ja für die allerverschiedensten Stoffe solche Bedingungen schaffen, bei denen sie ähnlich erscheinen werden, doch von einer solchen Ähnlichkeit bis zu vollkommener Identität führt noch ein sehr weiter Weg. Diese neuen Versuche von van Dam widerlegen also bei gehöriger Beleuchtung durchaus nicht das Vorhandensein zweier Fermente im Kalbsmagen; sie beweisen nur, daß einerseits zwischen dem Pepsin und Chymosin eine Ähnlichkeit besteht, die sich in der beiden Fermenten innewohnenden Fähigkeit, Casein zu verdauen, äußert, während sie andererseits noch einmal das verschiedene Verhalten dieser Fermente der Acidität und verschiedenen Substraten gegenüber hervortreten lassen.

Zweifellos unterscheidet sich die Kalbsinfusion nach Kraft und Charakter ihrer fermentativen Wirkung in scharf ausgeprägter Weise von den Mageninfusionen anderer Tiere, darunter auch von der des erwachsenen Tieres derselben Art — des Rindes. Diese Tatsache kann auch von den Unitariern nicht hinweggeleugnet werden, und doch beharren sie hartnäckig bei ihrer einmal eingenommenen Stellung. Das Ferment, sagen sie, ist überall ein und dasselbe und der zur Beobachtung gelangende Unterschied in der fermentativen Wirkung wird durch den Einfluß von Verunreinigungen bedingt; in der Kalbsinfusion sind gewisse Stoffe  $x$  enthalten, die dem Pepsin den Charakter des Chymosins geben, mit anderen Worten: Chymosin = Pepsin +  $x$ . Zu diesem Argument nimmt auch van Dam seine Zuflucht, und von diesem Standpunkte aus sagt er von meinen Trennungsversuchen, «daß es nicht gelingt, durch einfache Dialyse alle Verunreinigungen wegzuschaffen» (S. 251—252). Wenn man diese lakonische und durch keinerlei experimentelle Daten begründete Behauptung weiter fassen wollte, so müßte man hinzufügen: ... Verunreinigungen, die die milchkoagu-

lierende Kraft des Pepsins vielmals vergrößern, die es seiner eiweißverdauenden Fähigkeit berauben, es beim Erwärmen im Brutschrank leicht zerstörbar machen usw.; und ferner müßte man zugeben, daß eben diese Verunreinigungen bei der Bearbeitung der Kalbsinfusion mit Elastin bei niedriger Acidität vom letzteren zugleich mit dem Ferment adsorbiert und bei der nachfolgenden Bearbeitung des Elastins mit Wasser zugleich mit dem Ferment wieder ausgeschieden werden. (Vgl. meine diesbezüglichen Versuche in der vorliegenden Mitteilung X, XI, XII, XIII). Bei meiner Trennungsmethode gehen diese Verunreinigungen nach van Dams Meinung in das Filtrat über, doch werden durch Hinzusetzen des Filtrats zur Niederschlagslösung die Eigenschaften der letzteren fast nicht verändert. (Vgl. <sup>(15)</sup> Vers. XXVI.)

Solange die Natur der Fermente uns nicht bekannt ist und dieselben nicht rein erhalten worden sind, lassen sich alle möglichen Hypothesen über ihre Zusammensetzung, über ihre chemische Struktur, über ihren Gehalt an hemmenden oder beschleunigenden Stoffen usw. aufstellen, sowie derartige Einwände wie der oben erwähnte machen; nur entbehren dieselben einer experimentellen Begründung, da diejenige hypothetische Substanz (x), die das Pepsin in Chymosin verwandeln soll, bis hierzu noch von niemand getrennt erhalten und die Verwandlung des Chymosins in Pepsin und umgekehrt noch von niemand erzielt worden ist. Mit dem gleichen Recht könnte man ja die Selbständigkeit irgend eines beliebigen anderen Ferments, z. B. des Trypsins, bezweifeln. Da nun aber die von den Unitariern vorgebrachten Erklärungen bei aller Unzulänglichkeit ihrer Begründung auch noch überaus verwickelt sind, so bleibt uns als die einfachste Deutung aller zur Beobachtung gelangenden Erscheinungen nichts weiter übrig, als das Vorhandensein zweier selbständiger Fermente im Magen des Kalbes anzunehmen.

In meiner hier wiederholt zitierten Arbeit habe ich bereits gesagt, daß ich bei Benutzung der gleichen Methoden, wie bei der Untersuchung der Mageninfusionen vom Kalb und Rind, mich von dem Vorhandensein eines selbständigen milch-

koagulierenden Ferments in den Mägen anderer junger Wiederkäuer (Lämmer und Zicklein), sowie bei einem (4 tägigen) Füllen und (6—8 tägigen) Ferkeln überzeugt habe. Die ausführlichen Protokolle der betreffenden Versuche habe ich in russischer Sprache veröffentlicht<sup>1)</sup> und will mich hier damit begnügen, nur einige Versuche anzuführen, die in der Hinsicht interessant sind, daß sie auf das Vorhandensein einer Artspezifität des Chymosins beim Ferkel hinweisen.<sup>1)</sup>

XVI. Bei der Messung der milchkoagulierenden Kraft der Mageninfusion eines 7tägigen Ferkels und einer stark verdünnten Kalbsinfusion an Kuh- und Schweinemilch wurden folgende Werte erhalten:

Ferkelinfusion koag. Kuhmilch in 250"	Schweinemilch in 48"
Kalbsinfusion       »       »       255"	»       »       120"

Derselbe Versuch mit anderer Schweinemilch:

Ferkelinfusion koag. Kuhmilch in 240"	Schweinemilch in 115"
Kalbsinfusion       »       »       240"	»       »       405"

Die Messung der Koagulationskraft beider Infusionen an Kuhmilch ergibt für beide fast gleiche Werte, während der Schweinemilch gegenüber die Ferkelinfusion sich um mehr als 3mal stärker erweist als die Kalbsinfusion.

Beim Vergleich von Ferkel- und Schweineinfusion ergab sich, daß das Ferment des erwachsenen Tieres keine solche Artspezifität mehr besitzt.

Ferkelinfusion koag. Kuhmilch in 240"	Schweinemilch in 115"
verdaut nach Mett 2,2 mm,	

Schweineinfusion koag. Kuhmilch in 25' = 1500"	Schweinemilch
in > 1 Stunde, verdaut nach Mett 7,2 mm.	

Vom biologischen Standpunkt ist eine solche Erscheinung vollkommen verständlich: im Magen des jungen Tieres wird

<sup>1)</sup> Auf die Spezifität der Wirkung der Chymosine gewisser Tiere (Kälber, Lämmer und Zicklein) auf die Milch der eigenen Art hat bereits Fuld<sup>8)</sup> hingewiesen. Ich habe seine Versuche an denselben Tierarten nachgeprüft, bin aber zu keinen bestimmten Ergebnissen gelangt, da der erhaltene Unterschied in den Koagulationszeiten fast nicht über die Grenzen des Versuchsfehlers hinausging.

ein spezielles milchkoagulierendes Ferment produziert, das für die Koagulation derjenigen Milch angepaßt ist, die dem betreffenden Tiere als Nahrung dient, weshalb dieses Ferment von besonders starker Wirkung gerade auf die Milch seiner eigenen Art ist; beim erwachsenen Tiere stellt die milchkoagulierende Fähigkeit eine zufällige Begleiterscheinung des Pepsins dar, das für die Milchkoagulation nicht angepaßt ist und keine Spezifität besitzt.

Die Ergebnisse aller das Vorhandensein eines selbständigen milchkoagulierenden Ferments im Magen des Kalbes und einiger anderer junger Säugetiere beweisenden Versuche berechtigen uns aber noch nicht zu weitgehenden Verallgemeinerungen. Die in der Literatur vorhandenen Daten sprechen vielmehr für das Fehlen eines solchen Ferments bei vielen anderen Säugetieren. Wie die Untersuchungen von Hammarsten,<sup>(10)</sup> Langendorf,<sup>(13)</sup> Gmelin<sup>(9)</sup> und anderen gezeigt haben, weisen die Mageninfusionen von jungen Hunden, Katzen und einigen anderen neugeborenen Säugern weder eine milchkoagulierende, noch eine eiweißverdauende Fähigkeit auf. Ich habe zur Nachprüfung dieser Beobachtungen mehr als 10 Sektionen von jungen Hunden verschiedenen Alters, jedoch nicht älteren als 10 Tage, vorgenommen: in den Mägen fanden sich stets feine Caseingerinnsel, doch die Infusionen erwiesen sich, sowohl der Kuh- und Hundemilch, als auch dem Karminfibrin gegenüber als unwirksam: ebenso erhielt ich negative Resultate mit Infusionen auf  $n/20$ -Milchsäure und Wasser. Somit existieren Säugetiere, in deren Mägen Milch zum Gerinnen gebracht wird, obwohl in denselben weder Pepsin noch Chymosin vorhanden ist. Wodurch wird denn nun diese Gerinnung hervorgebracht? — Hammarsten erklärt dieselbe durch die Wirkung der HCl des Magensaftes, Gmelin durch die der Milchsäure, die er stets in den Mägen von jungen Hunden fand. Zugunsten der Hammarstenschen Annahme sprechen die Beobachtungen von O. Cohnheim und Soerter,<sup>(3)</sup> die im natürlichen Magensaft eines 4tägigen jungen Hundes freie Salzsäure bei völligem Fehlen der Fermente fanden.

Bei anderen Säugern ist von den ersten Lebenstagen an wohl Pepsin, aber offenbar kein Chymosin im Magen enthalten. So z. B. tritt beim Menschen bereits mit dem Beginn des 5.—6. Embryonalmonats Pepsin oder sein Zymogen auf (Hammarsten,<sup>(10)</sup> Langendorf, Zweifel<sup>(22)</sup> u. a.), während man bis hierzu bezüglich des Chymosins keinerlei bestimmte Hinweise auf sein Vorhandensein im Magen des Kindes hat. Die Untersuchungen von Zunz und Sternberg<sup>(21)</sup> u. a., insbesondere aber von Wohlgemuth und Roeder<sup>(20)</sup> sprechen eher dafür, daß die Milchgerinnung im Magen des Kindes unter der Einwirkung des Pepsins allein erfolgt.

Die gleiche Erscheinung — das Fehlen des Chymosins und das Vorhandensein von Pepsin — wird nach den Untersuchungen von Ducceschi<sup>(6)</sup> bei der Beutelratte (*Didelphys marsupialis*) beobachtet; Mageninfusionen von jungen, sich von der Muttermilch nährenden Tieren verdauten wohl Fibrin, brachten aber weder Kuhmilch, noch auch Milch der eigenen Art zur Gerinnung,<sup>1)</sup> obwohl sich nach der Nahrungsaufnahme stets feine Caseingerinnsel fanden.

Somit gerinnt die Milch, soweit man nach den in der einschlägigen Literatur vorhandenen Daten urteilen kann, in den Mägen aller Säugetiere von den ersten Lebenstagen an, doch nicht alle besitzen ein selbständiges milchkoagulierendes Ferment. Die einen (Wiederkäuer und die ihnen nahestehenden Huftiere — Pferd und Schwein) sondern ein solches Ferment neben dem Pepsin ab,

<sup>1)</sup> Ducceschi nimmt an, daß das Pepsin der jungen Beutelratte (sogar der Kuhmilch gegenüber) vollkommen der milchkoagulierenden Fähigkeit entbehrt. Doch können wir uns mit dieser Annahme nicht einverstanden erklären. Der Autor sagt erstens, daß die Infusionen Fibrin und Eiweiß verdauten, gibt aber keine Zahlenwerte für die Verdauungskraft; es ist überaus wahrscheinlich, daß keine Gerinnung erfolgte, weil der Pepsingehalt zu gering war; Koagulationsversuche mit Kuhmilch in Gegenwart von HCl oder CaCl<sub>2</sub> hat dieser Autor aber nicht angestellt. Zweitens gerann die Milch, auf die er eine neutralisierte Mageninfusion von *Didelphys* wirken ließ, beim Kochen, mit anderen Worten: sie ergab die «Metacaseinreaktion», die als erstes Anzeichen der beginnenden Verwandlung des Caseins in Paracasein gilt.



bei den anderen (Mensch(?) und Didelphys) gelangt nur Pepsin allein zur Absonderung, ohne daß Chymosin vorhanden wäre, während bei den dritten (Hund, Katze) weder Pepsin noch Chymosin vorhanden ist und die Milchgerinnung unter der Einwirkung irgendwelcher anderer, noch nicht völlig klargestellter Faktoren erfolgt. Wie sich die übrigen Säugetiere unter diese 3 Kategorien verteilen — ist zurzeit noch unbekannt.

#### Literatur.

1. Abderhalden, E., und Strauch, F., Diese Zeitschrift. Bd. 71 (1911), S. 315.
2. Burge, W., The americ. Journ. of Phys., Bd. 29 (1912), S. 330.
3. Cohnheim, O., und Soerter. Diese Zeitschrift, Bd. 37 (1902). S. 497.
4. Conn, H. W., Centralbl. für Bakter., Bd. 12 (1891), S. 223.
5. van Dam, W., Diese Zeitschrift, Bd. 79 (1912), S. 247.
6. Ducceschi, V., Archivio di Fisiol., Bd. 5 (1908), S. 413.
7. Friedberg, L. H., Ref. in Malys Jahresber., Bd. 18 (1899), S. 104.
8. Fuld, E., Fühlings landwirtsch. Zeitung, Bd. 51 (1902), S. 503.
9. Gmelin, Pflügers Archiv, Bd. 90 (1901), S. 591.
10. Hammarsten, O., Festgabe von C. Ludwig, Leipzig 1875, S. 116.
11. — — Diese Zeitschrift, Bd. 74 (1911), S. 142.
12. van Hasselt, J. F., Diese Zeitschrift, Bd. 70 (1910), S. 171.
13. Langendorf, O., Arch. f. Anat. u. Phys. (1879), phys. Abt., S. 95.
14. Porter, A., Arch. of Physiol., Bd. 42 (1911), S. 389.
15. Rakoczy, A., Diese Zeitschrift, Bd. 68 (1910), S. 421.
16. — — Ibid., Bd. 73 (1911), S. 453.
17. — — Untersuchungen zur Frage von der Identität des Pepsins und Chymosins. Dissert. Kiew 1912 (russisch).
18. Sawitsch, W., Diese Zeitschrift, Bd. 68 (1910).
19. Tichomirow, N., Arbeiten d. Gesellsch. russ. Ärzte in St. Petersburg, Bd. 73 (1906), S. 229.
20. Wohlgemuth, J., und Roeder, H., Bioch. Zeitschr., Bd. 2 (1907), S. 421.
21. Zunz, H., und Sternberg, L., Archiv f. Anat. u. Phys. (1900), phys. Abt., S. 362.
22. Zweifel, Centralbl. f. mediz. Wiss., Bd. 12 (1874), S. 939.